suivis d'un dernier jour à 20° et sans protection contre la lumière solaire, les pertes sont le plus souvent négligeables et atteignent au plus 30 % dans certains échantillons. Seul, l'axérophtol disparaît rapidement : dans les yoghourts de lait entier, les pertes sont déjà de 25 à 70 % après deux jours de stockage au frais et à l'obscurité, et atteignent 60 à 90 % après 5 jours, dont 4 au frais et à l'obscurité, suivis d'un dernier jour à 20° et sans protection contre la lumière.

En ce qui concerne les vitamines B1 et B2, il ne semble pas que la teneur du yoghourt en matière grasse influe sur leur stabilité.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] ASSOCIATION OF VITAMIN CHEMISTS. *Methods of Vitamin Assay. Inter-science Publ.*, Londres, 1947.
- [2] J. CAUSERET et D. HUGOT. *Le lait*, 1955, **35**, 129.
- [3] Y. RAOUL et M.-M. JANOT. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1941, **23**, 78.

L'INSPECTION SANITAIRE DU LAIT

par

G. THIEULIN et D. BASILLE

L'organisation de l'hygiène du lait implique d'abord — ce que l'on ne saurait trop répéter — une production satisfaisante basée sur l'état sanitaire des femelles laitières, l'alimentation et les conditions de vie de ces animaux, une récolte du lait caractérisée par la propreté et, si possible, la réfrigération.

A ces critères fondamentaux devant être constamment observés, et à défaut de mesures extrêmement rigoureuses qui entraîneraient un prix de revient très élevé, la pasteurisation apportera la garantie complémentaire indispensable, en vue de l'obtention du lait « hygiénique », dans des conditions économiques socialement nécessaires. A fortiori, peut-il sembler, la stérilisation est à même de permettre un résultat également favorable.

L'expérience montre que si, dès le stade initial, toutes précautions sont prises, l'objectif fixé est fatalement atteint.

Ainsi, le respect constant de conditions préalables établies à bon escient, tant à l'étable que tout au long du circuit commercial (transports, pasteurisation ou stérilisation, distribution, vente au détail), rendrait pratiquement inutile tout contrôle ultérieur. Quelques vérifications par sondage suffiraient pour confirmer que la sécurité est réelle.

Faute de prescrire de telles conditions préalables et de veiller à leur mise en œuvre, il ne reste plus que la ressource d'apprécier, le mieux et le plus vite possible, la qualité hygiénique du lait livré

au consommateur et d'en déduire les meilleures mesures à prendre pour maintenir ou redresser, avec grandes difficultés d'ailleurs, une situation toujours précaire.

Inspection préventive du lait pasteurisé

La garantie que doit offrir le lait pasteurisé découle d'une technique éprouvée et du contrôle effectif dont il peut être aisément l'objet.

Des épreuves bactériologiques classiques sont à même de nous renseigner d'une telle fourniture, mais il est d'une grande importance de pouvoir intervenir au plus tôt, et même de façon préventive, afin d'empêcher la distribution et tout au moins la consommation d'un lait pasteurisé suspect ou dangereux.

Une protection efficace, le conditionnement en bouteille capsulée ou en emballage perdu, inviolable, permet de conserver au lait assaini les bénéfices de la pasteurisation. Cette condition étant remplie, il est indispensable de contrôler dans les plus brefs délais, la pasteurisation elle-même.

Les progrès de la technique ont mis, entre les mains de l'hygiéniste, les moyens d'éviter ou de reconnaître rapidement, d'une part l'un des deux, d'autre part les deux motifs essentiels d'insalubrité du lait pasteurisé, à savoir : la sous-pasteurisation et la recontamination par du lait cru. La mise en œuvre de ces moyens permet d'établir, indépendamment du contrôle éducatif et répressif habituel, dont il sera parlé ultérieurement, l'inspection préventive de salubrité des laits pasteurisés.

En premier lieu, un agencement mécanique : la thermographie. En second lieu : l'épreuve de la phosphatase.

1^o LA THERMOGRAPHIE

Les progrès récents de la pasteurisation industrielle sont dus, avant tout, à l'introduction d'un automatisme de plus en plus rigoureux dans la conduite des opérations. Ces perfectionnements mécaniques ont réduit la part d'erreur imputable aux défaillances du personnel.

Ainsi, les appareils modernes de pasteurisation sont pourvus d'un dispositif de sécurité : la valve de diversion ou vanne de dérivation.

Si, à la sortie du chambreur, où s'effectue pendant un temps reconnu suffisant le maintien du lait à une température donnée, le lait pasteurisé n'atteint pas ce degré de température fixé, le circuit est fermé automatiquement et le lait repasse dans le pasteurisateur, tandis qu'un dispositif d'alarme est déclenché.

Degré de température du lait et mouvements de la vanne de dérivation s'inscrivent continuellement sur un graphique.

L'examen de ce document permet donc de connaître, même rétrospectivement et pour n'importe quel moment, la température du lait et la position de la valve de diversion. Il suffira, dès lors, de contrôler l'enregistreur-transmetteur de température, par référence à un thermomètre-témoin, pour savoir si les normes de la pasteurisation ont été respectées, au moins en ce qui concerne le degré de température.

Pour la durée même du chauffage, le contrôle se bornera à vérifier le débit des appareils, car la durée du chambrage reste constante, dans chaque installation, tant que le débit ne varie pas. L'appareil, une fois étalonné, il ne sera donc plus nécessaire de procéder à une nouvelle détermination du temps de chambrage qu'au cas où une modification du débit serait constatée.

2° L'ÉPREUVE DE LA PHOSPHATASE

Jusqu'en 1935, le contrôle biochimique de la pasteurisation était basé sur la recherche de la peroxydase, selon les méthodes bien connues de DUPOUY, au gaïacol, et de STORCH, à la paraphénylènediamine.

La courbe de destruction de cette diastase, se situe fortement au-dessus de celle de la pasteurisation idéale, cette dernière garantissant la destruction des germes pathogènes du lait cru et en particulier du bacille de Koch.

Une réaction négative implique donc une large marge de sécurité relativement au degré de température atteint, mais cette méthode est peu sensible à la recontamination du lait pasteurisé par du lait cru. D'autre part, elle peut permettre une confusion si le lait est souillé par certaines impuretés métalliques.

Enfin, la possibilité maintenant offerte de disposer de matériels et réactifs étrangers, non fabriqués en France, lui enlève de son intérêt au profit de la technique de plus en plus utilisée dans le monde entier : l'épreuve de la phosphatase.

La phosphatase alcaline est une enzyme toujours présente dans le lait cru, et constamment inactivée par une pasteurisation correcte. En 1935, H.-D. KAY et W.-R. GRAHAM ont tiré, de cette propriété, un remarquable test de contrôle de l'efficacité de la pasteurisation industrielle du lait.

Les travaux de ces auteurs dérivent de l'observation suivante : si l'on construit, en fonction des coordonnées « température et temps de chauffage », d'une part, une courbe de destruction des bactéries susceptibles de rendre un lait dangereux à consommer, et d'autre part, une courbe d'inactivation de la phosphatase, on constate qu'il existe, à tous les niveaux, une marge de sécurité nette entre les deux courbes. Pour une température donnée, la

durée de temps nécessaire pour détruire la flore microbienne pathogène est plus courte que la durée nécessaire pour inactiver la phosphatase. Pour un temps de chauffage donné, la température suffisante pour détruire les germes pathogènes du lait est inférieure à la température nécessaire pour inactiver la phosphatase. Précisons que, par flore pathogène, on entend ici les micro-organismes capables d'engendrer effectivement des troubles chez l'homme dans les conditions normales et habituelles entourant la consommation du lait.

Le test de KAY et GRAHAM apporte donc une indication capitale sur la qualité du lait pasteurisé puisqu'il dénonce les deux principales causes d'insalubrité de ce produit, la sous-pasteurisation et la recontamination par du lait cru.

Cependant, l'inspection préventive du lait pasteurisé est une véritable course contre la montre. Elle ne s'accommode pas du délai de 24 heures nécessaire pour exécuter l'épreuve classique de KAY et GRAHAM.

A diverses reprises, des techniques plus rapides et plus simples ont été proposées, répondant au même but. En particulier, ASCHAFFENBURG et MULLEN ont mis au point un protocole de réalisation de l'épreuve de la phosphatase dans des conditions de temps et de précision remarquables. Le point de départ en est l'observation suivante, faite en 1946, par BESSEY, LOWRY et BROOK : le paranitrophénylphosphate disodique est incolore en solution alcaline ; il est rapidement hydrolysé par la phosphatase ; le produit de l'hydrolyse, le paranitrophénol est jaune en solution alcaline ; l'intensité de la couleur jaune témoigne de l'activité de la diastase.

A partir de cette observation, ASCHAFFENBURG et MULLEN proposèrent, en 1949, un nouveau test, réalisable en deux heures, pour la mise en évidence de la phosphatase dans le lait.

En 1950, TRAMER et WIGHT comparèrent les résultats du nouveau procédé avec ceux de la méthode classique de KAY et GRAHAM. Ils proposèrent une interprétation adéquate des résultats.

En 1953, ASCHAFFENBURG introduisit un dernier perfectionnement dans la formule de la solution tampon, dont l'effet fut de rendre le réactif plus stable et moins onéreux.

Les méthodes ordinaires de la colorimétrie sont applicables à l'épreuve rapide de la phosphatase. Cependant, dans le but d'unifier l'interprétation des résultats, il paraît souhaitable que tous les laboratoires puissent adopter un matériel normalisé et une technique uniforme. TRAMER et WIGHT ont créé les disques APTW dans lesquels sont insérés des verres colorés inaltérables ; à ces couleurs de référence correspondent des valeurs indiquées en microgrammes de paranitrophénol libéré par millilitre de lait.

Le disque APTW5 comporte 5 couleurs de référence correspondant respectivement à 0, 6, 10, 18 et 42 microgrammes de paranitro-phénol. Le disque APTW7 donne, en plus, deux valeurs intermédiaires, 14 et 25.

Le mode opératoire approprié à l'interprétation proposée par TRAMER et WIGHT est le suivant :

Matériel spécial :

1° Un comparateur de Lovibond pourvu de son socle (resazurin stand), équipé d'un disque APTW et de deux cuves paralléli-pédiques de 25 millimètres d'arête (glass cells) (1) (2) ;

2° Des tubes à essais de 150 millimètres de hauteur et de 15 mm. 5 de diamètre extérieur pour 13 mm. 5 de diamètre intérieur, en verre rigoureusement incolore (6" × 5/8" test tubes) (3) (4) ;

3° Des bouchons de caoutchouc, exempt d'impuretés phéno-liqués (bacteriological seals) (3) ;

4° Un poussoir pour placer les bouchons de caoutchouc en évitant le contact des doigts (3) ;

5° Un bain-marie à thermostat réglé à 37° C. ;

6° Une pipette de 5 millilitres pour mesurer le réactif, et des pipettes de 1 millilitre pour distribuer les échantillons de lait.

Toute la verrerie devra être chimiquement propre, séchée et conservée à l'abri de la poussière. Les bouchons de caoutchouc seront soigneusement ébouillantés dans l'eau distillée avant usage ; toute contamination par la salive sera évitée lors des transferts de liquides à la pipette.

Réactif :

Préparer une solution-tampon selon la formule suivante :

Carbonate de sodium anhydre	3 gr. 5
Bicarbonate de sodium	1 gr. 5
Eau distillée	1 litre

Placer 0 gr. 15 de paranitrophénylphosphate disodique (3) (5) ($\text{Na}^2\text{C}^6\text{H}^4\text{NO}^2\text{PO}^4$) dans une fiole jaugée, compléter à 100 millilitres avec la solution-tampon ci-dessus. Le réactif peut être conservé

(1) Pouvant être obtenu à : Astell Laboratory Service Co Ltd, 172 Brownhill Road, Catford London, SE 6.

(2) Pouvant être obtenu à : Tintometer Limited, Salisbury, England.

(3) Pouvant être obtenu à : Astell Laboratory Service Co Ltd, 172, Brownhill Road, Catford. London, SE 6.

(4) Pouvant être obtenu à : Tintometer Limited, Salisbury, England.

(5) Pouvant être obtenu à : British Drug Houses Ltd, Poole, Dorset, England.
(Pour se procurer ces différents matériels et réactifs, on peut, plus commodément, s'adresser aux importateurs français.)

sans altération pendant plusieurs jours à la glacière. Récuser un réactif qui, placé dans la cuve de 25 millimètres, donnerait une lecture de plus de 10 au comparateur équipé du disque APTW, une cuve semblable remplie d'eau distillée étant placée sous le verre coloré.

Manipulation :

Préparer un témoin négatif en faisant bouillir une petite quantité du lait à analyser.

Transférer 5 millilitres de réactif dans deux tubes respectivement, boucher les tubes et les porter à 37° au bain-marie pendant 3 minutes. Ajouter 1 millilitre du lait-témoin dans l'un des tubes et 1 millilitre du lait à éprouver dans l'autre. Replacer les bouchons de caoutchouc. Mélanger. Remettre les tubes au bain-marie.

Lecture :

Effectuer une première lecture après 30 minutes d'incubation à 37° C. et une seconde lecture après 2 heures de séjour au bain-marie. Pour effectuer la comparaison colorimétrique, agiter les tubes, placer le tube-témoin sous le disque coloré et l'autre tube sous l'ouverture centrale. Orienter l'appareil vers une source de lumière naturelle diffuse. Faire tourner le disque jusqu'à égalisation des teintes sur chacun des deux tubes. Lire l'indication qui apparaît dans le voyant : le nombre correspond à autant de microgrammes de nitrophénol libérés par millilitre de lait.

Interprétation :

TRAMER et WIGHT ont proposé l'interprétation suivante :

— *Première lecture* (après 30 minutes à 37°) :

0	Lait correctement pasteurisé.
6	Lait suspect.
10 ou plus	Lait sous-pasteurisé.

— *Seconde lecture* (après 2 heures à 37°) :

De 0 à 10	Lait correctement pasteurisé.
Plus de 10 à 18	Légèrement sous-pasteurisé.
Plus de 18 à 42	Sous-pasteurisé.
Plus de 42	Gravement sous-pasteurisé.

L'interprétation proposée par TRAMER et WIGHT est appropriée aux normes anglaises de la pasteurisation basse (chauffage pendant 30 minutes à 62°8 au moins et 65°6 au plus) et de la pasteurisation rapide à haute température (chauffage pendant 15 secondes au moins à 71°7 au moins).

Les normes de la pasteurisation n'ont pas été officiellement fixées en France jusqu'à ce jour, et les habitudes adoptées dans les

différentes usines manquent d'uniformité. Mais, on peut affirmer que les laits pasteurisés français sont régulièrement soumis à des degrés de chauffage très supérieurs aux normes de la pasteurisation anglaise, au moins en ce qui concerne la pasteurisation haute, et l'on sait que ce procédé est, de beaucoup, le plus employé en France. Ces laits sont, chez nous, pasteurisés à des températures comprises entre 85° et 95°. A cette température, l'inactivation de la phosphatase alcaline est totale et instantanée, et aucune réactivation n'est à redouter, dans les délais et les conditions de l'expertise prévue pour l'inspection préventive.

Tant que ces habitudes seront maintenues, et à plus forte raison si elles étaient entérinées officiellement, il n'y aurait sans doute pas d'inconvénient à augmenter un peu la sévérité de l'interprétation des résultats du test d'ASCHAFFENBURG et MULLEN, pour les laits ayant subi la pasteurisation haute. On pourrait, par exemple, considérer comme sous-pasteurisé un lait qui libérerait plus de 6 microgrammes de paranitrophénol en 2 heures. Une expérience basée sur quelque mille examens pratiqués sur les fournitures concourant à l'approvisionnement de l'agglomération parisienne nous a révélé que nos laits pasteurisés donnent couramment des lectures de 0 (microgramme de nitrophénol par millilitre de lait) après 2 heures d'incubation.

Dépistage des recontaminations par le lait cru.

Des études expérimentales, portant sur des dilutions de lait cru dans du lait correctement pasteurisé ont montré que la méthode d'ASCHAFFENBURG et MULLEN permettait de déceler, dans la pratique, des contaminations par le lait cru de l'ordre de 1 pour cinq cents, lorsque la lecture est effectuée après 2 heures d'incubation.

Nous avons répété, sur une plus petite échelle, les expériences d'ASCHAFFENBURG et MULLEN, à l'effet de vérifier si leurs conclusions s'appliquaient aux conditions dans lesquelles nous nous trouvions placés.

Nous avons dilué trois laits crus de faible mélange, provenant d'étables de nourrisseurs du département de la Seine (effectifs de 15 à 25 animaux), dans trois laits pasteurisés certifiés. Nous avons obtenu les résultats ci-après :

Les résultats obtenus s'inscrivent dans le cadre des notions antérieurement vérifiées par d'autres expérimentateurs. Ils confirment que le test d'ASCHAFFENBURG et MULLEN permet de déceler, en 2 heures, des contaminations par le lait cru, de l'ordre de 1 pour cinq cents, si l'on s'en tient à l'interprétation classique de TRAMER et WIGHT, considérant comme positives les notations supérieures à 10 (microgrammes de nitrophénol).

Proportion de lait cru ajouté au lait pasteurisé	Echantillon n° 1		Echantillon n° 2		Echantillon n° 3	
	30 minutes	2 heures	30 minutes	2 heures	30 minutes	2 heures
1 pour 10	42	42 +	42	42	42 +	42 +
1 pour 50	25	42 +	42	42 +	42	42 +
1 pour 100	10	42	25	42	25	42 +
1 pour 200	6	25	— (1)	—	—	—
1 pour 300	0	18	—	—	—	— (1)
1 pour 500	0	14	6	14	14	18
1 pour 1.000	0	10	0	6	6	10
Lait cru	42 +	42 +	42 +	42 +	42 +	42 +
Lait pasteurisé	0	0	0	0	0	0

(1) Lectures jugées inutiles, dans l'expérimentation réalisée.

Nous avons souligné précédemment qu'il n'y aurait probablement pas de contre-indication à considérer comme positive, pour nos laits surpasteurisés français, toute notation supérieure à 6 après 2 heures. Dans ce cas, les recontaminations par le lait cru de l'ordre de 1‰ seraient également dénoncées.

CONCLUSION

L'inspection préventive du lait pasteurisé est réalisable :

1^o Pendant la pasteurisation même, grâce à un aménagement mécanique des appareils de chauffage, et au contrôle de leur fonctionnement, par thermographie ;

2^o Dès la pasteurisation, le résultat étant obtenu dans un délai de 2 heures au maximum, grâce au contrôle direct de l'opération par l'épreuve de la phosphatase, selon le procédé d'ASCHAFFENBURG et MULLEN, que nous croyons pouvoir préconiser.

Cette inspection préventive est capable d'empêcher la distribution et la consommation d'un lait sous-pasteurisé ou recontaminé par du lait cru, c'est-à-dire d'un lait suspect ou dangereux.

Pour avoir son plein effet, elle doit être appliquée, non seulement par les Services officiels de contrôle, mais également, et en collaboration, par les techniciens responsables des ateliers de pasteurisation, en vue de leur propre sauvegarde. (A suivre.)

BIBLIOGRAPHIE ESSENTIELLE

- H.-D. KAY et W.-R. GRAHAM JUNIOR. *Journ. Dairy Research*, 1935, 6, 191.
 O. BESSEY, O.-H. LOWRY et M.-J. BROOK. *Journal Biol. Chemistry*, 1946, 164-321.
 G. THIEULIN et R. VUILLAUME. *Eléments pratiques d'analyse et d'inspection du lait*, 2^e édition. Paris, 1948, 96 et 165.

- R. ASCHAFFENBURG et J.-E.-C. MULLEN. *Journal Dairy Research*. 1949, 16, 58, 67.
- J. TRAMER et J. WIGHT. *Journal Dairy Research*. 1950, 17, 194, 199.
- J. WIGHT et J. TRAMER. *Dairy Indust.* 1952, 17, 54, 56.
- R. ASCHAFFENBURG. *Dairy Indust.* 1953, 18, 316.
- G. THIEULIN. *La Presse Médicale*. 1955, n° 28, 583.
- G. THIEULIN et D. BASILLE. *Bul. Acad. Vét.* 1955, n° 6.

INFLUENCE DU CHAUFFAGE DU LAIT SUR LE DÉVELOPPEMENT DES BACTÉRIES (1)

Croissance des bactéries lactiques dans des laits chauffés à des températures variables

par

J.-E. AUCLAIR et A. PORTMANN

Station Centrale de Microbiologie et Recherches Laitières Jouy-en-Josas

INTRODUCTION

Il est bien connu que le lait subit, par chauffage, un ensemble de modifications qui le rendent en général plus apte à la croissance des bactéries que l'on y ensemence ultérieurement. On sait en particulier que le lait cru contient des substances bactériostatiques, les « lacténines », qui sont détruites totalement par un chauffage de vingt minutes à 75°.

Les lacténines L1 et L2 sont actives particulièrement sur *Streptococcus pyogenes* et c'est en utilisant cet organisme que nous avons pu doser ces substances, étudier quelques-unes de leurs propriétés et obtenir enfin des préparations concentrées des lacténines [1, 2, 3].

En ce qui concerne les bactéries lactiques, il semble bien que les divers phénomènes d'inhibition de ces bactéries par le lait cru, étudiés par de nombreux auteurs [voir par exemple 4, 5, 6, 7, 8, 9] relèvent principalement de l'action des lacténines car les températures et les temps de chauffage généralement cités pour l'inactivation de l'effet inhibiteur du lait cru correspondent assez bien aux conditions thermiques de destruction de ces substances [3].

Il n'est pas impossible cependant que des substances bactéricides autres que les lacténines soient en jeu. D'autre part les résultats de plusieurs auteurs [4, 5, 7, 10, 11] suggèrent qu'en dehors de la destruction des substances inhibitrices il apparaît au cours du chauffage du lait, et spécialement aux températures supérieures à 100°, des substances qui ont pour effet de favoriser la croissance des bactéries lactiques.

(1) *Annales de Technologie agricole*, 1955, n° 2, 121.